

Faculté de Médecine et de Pharmacie

SUR QUELQUES DÉRIVÉS
DE LA DULCINE

Sa recherche et son dosage dans les substances alimentaires

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Le 27 janvier 1902

PAR

André MOULIN

Né à Saint-Chamond (Loire), le 17 octobre 1869



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1902



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Faculté de Médecine et de Pharmacie

SUR QUELQUES DÉRIVÉS
DE LA DULCINE

Sa recherche et son dosage dans les substances alimentaires

THÈSE

PRÉSENTÉE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

(Section de Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Le 27 janvier 1902

PAR

André MOULIN

Né à Saint-Chamond (Loire), le 17 octobre 1869



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1902

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET	DOYEN.
LACASSAGNE	ASSESEUR.
CROLAS	QUESTEUR.

Professeurs honoraires

MM. PAULET, CHAUVEAU.

Professeurs

	MM.
Cliniques médicales	{ LÉPINE. BONDET. BARD. PONCET. X.
Cliniques chirurgicales	{ FOCHIER. GAYET. GAILLETON. PIERRET. WEILL. MONOYER. HUGOUNENQ. CAZENEUVE. FLORENCE. LORTET. TESTUT. RENAUT. MORAT. TEISSIER. AUGAGNEUR. MAYET. TRIPIER. POLLOSSON (Maurice). ARLOING. LACASSAGNE. COURMONT (J.). SOULIER. CROLAS.
Clinique obstétricale et Accouchements	
Clinique ophtalmologique	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	
Clinique des maladies mentales	
Clinique des maladies des enfants	
Physique médicale	
Chimie médicale et pharmaceutique	
Chimie organique et Toxicologie	
Matière médicale et Botanique	
Parasitologie	
Anatomie	
Anatomie générale et Histologie	
Physiologie	
Pathologie interne	
Pathologie externe	
Pathologie et Thérapeutique générales	
Anatomie pathologique	
Médecine opératoire	
Médecine expérimentale et comparée	
Médecine légale	
Hygiène	
Thérapeutique	
Pharmacologie	

Professeur adjoint

Clinique des maladies des femmes	M. LAROYENNE.
--	---------------

Chargés de cours complémentaires

	MM.	
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX,	agrégé
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS,	—
Propédeutique médicale	ROQUE,	—
Propédeutique chirurgicale	GANGOLPHE,	—
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN,	—
Anatomie pathologique	DEVIC,	—
Physiologie	DOYON,	—
Accouchements	FABRE,	—
Botanique	BEAUVISAGE,	—
Hydrologie et matières alimentaires	CAUSSE,	docteur ès sciences.

Agrégés

MM.	MM.	MM.	MM.
BEAUVISAGE	VALLAS	NOVÉ-JOSSERAND	CHATIN
ROUX	SIRAUD	BERARD	VILLARD
COLLET	DURAND	SAMBUC	TIXIER
BOYER	PIC	BORDIER	FABRE
BARRAL	PAVIOT	COURMONT (P.)	REGAUD
MOREAU			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. CROLAS, président; CAZENEUVE, assesseur;
MM. SAMBUC, agrégé et CAUSSE, chargé de cours.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A MON ÉPOUSE

A MES PARENTS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le Professeur CROLAS

A MONSIEUR CAUSSE

Chargé de cours à la Faculté de médecine et de pharmacie de Lyon

Avant d'entrer dans l'exposé de ce modeste travail, c'est avec une profonde émotion et une joie bien sincère que nous tenons à exprimer d'abord nos sentiments de reconnaissance envers nos parents, et à leur offrir un témoignage de remerciement pour leur dévouement et leur affectueuse bonté.

Nous adresserons à M. le professeur Crolas, qui a bien voulu présider notre thèse, l'hommage de notre profonde reconnaissance. Pendant tout le temps de nos études, cet excellent maître nous a soutenu de ses bons conseils et de ses encouragements.

Nous n'aurions garde d'oublier le nom de M. Causse, chargé de cours à la Faculté, auprès duquel nous avons toujours reçu un excellent accueil. Nous le remercions bien sincèrement des savants conseils qu'il nous a toujours prodigués sans compter. Ses avis éclairés et ses observations nous ont aidé fortement dans l'accomplissement de cette tâche.

Nous prions M. le professeur Cazeneuve et M. le professeur agrégé Sambuc de vouloir bien accepter l'hommage de notre respectueuse reconnaissance.

SUR QUELQUES DÉRIVÉS DE LA DULCINE

SA RECHERCHE ET SON DOSAGE DANS LES SUBSTANCES ALIMENTAIRES

Notre travail est divisé en quatre parties.

La première partie est réservée aux travaux touchant à la dulcine et aux composés qui en dérivent.

La seconde partie est consacrée à l'étude de quelques réactions et de certains dérivés de la dulcine.

La troisième partie comprend la recherche et le dosage de la dulcine dans les substances alimentaires.

Enfin, dans la quatrième partie nous avons réuni les conclusions auxquelles nous ont amené les recherches précédentes.

INTRODUCTION

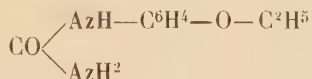
Le phénétol, phénate d'éthyl, de formule :



a été découvert par Cahours en 1849 sous forme d'un liquide incolore, très mobile, donnant des produits chlorés, bromés et des dérivés sulfoconjugués.

C'est en faisant réagir une solution de chlorhydrate d'amido-phénétol sur une solution de cyanate de potassium que Berlinerblau prépara le premier la dulcine en 1883.

La dulcine ou sucrol est la p.-phénétol carbamide :



Elle se dépose par simple mélange des deux solutions sous forme de lamelles brillantes, fusibles à 160°, peu solubles dans l'eau froide, solubles dans l'eau bouillante, l'alcool et l'éther.

La dulcine possède une saveur sucrée 200 fois supérieure à celle du sucre de canne et dépourvue de

tout arrière-goût ainsi que cela se produit pour *la saccharine* et ses sels.

Peu d'auteurs se sont occupés de la *dulcine*. Allen indique pourtant deux modes de préparation.

On l'a obtenue en faisant réagir l'amido-p.-phénétol sur l'oxychlorure de carbone, et en traitant le composé chlore ainsi obtenu par l'ammoniaque; ou encore en faisant réagir le diphénétol d'urée sur le carbamate d'urée.

Si on fait bouillir la *dulcine* avec de l'eau, elle se décompose lentement par une réaction inverse de la précédente en carbonate d'ammoniaque et en dipara-phénétol carbamide.

Si l'on ajoute de l'acide nitrique fumant à un fragment de *dulcine*, il se produit une violente réaction et la substance se dissout avec une coloration rouge orangé.

Morpurgo, Jorissen, Ruggieri, Bellier ont ajouté quelques pages à l'histoire de ce corps, mais leurs travaux ont eu surtout pour objet le côté analytique. Nous réservons donc leurs travaux pour le chapitre spécial où nous traitons de l'analyse de la *dulcine*.

Kinzel a étudié quelques produits d'oxydation dérivés de la p.-amido-phénétol.

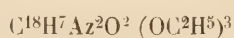
L'oxydation de l'amido-phénétol par l'eau oxygénée à une température voisine de 100° fournit une matière colorante qui se dépose sous forme d'une poudre brunâtre que l'on peut purifier par dissolution dans l'acide sulfurique et précipitation par l'eau.

Elle constitue une poudre rouge brun soluble en bleu foncé dans les acides minéraux, peu soluble

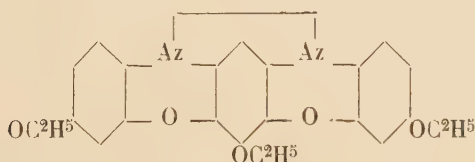
dans l'alcool, insoluble dans l'éther et dans l'eau, soluble dans le chloroforme, l'aniline, l'acide acétique et répondant à la formule :



Chauffée avec de l'acide iodhydrique, cette matière colorante perd trois groupes éthyl. On pourrait donc écrire sa formule :



Kinzel croit devoir lui attribuer la suivante :



CHAPITRE PREMIER

Étude de quelques réactions et dérivés de la dulcine.

I. — ACTION DU RÉACTIF MERCUROSO-MERCURIQUE SUR LA DULCINE

Dans une communication sur la dulcine faite au mois de mars 1901 à la Société chimique de Lyon, nous avons exposé les premiers résultats obtenus par l'action du réactif mercuroso-mercurique sur la dulcine. Depuis cette époque nous avons poursuivi cette étude et ajouté quelques faits à ceux que nous avons exposés.

L'action du réactif sur la dulcine est accompagnée d'une décomposition profonde et de la scission de la molécule en cyanate de mercure et en matière colorante.

La matière colorante paraît identique à celle qui a été décrite par Kinzel; mais à notre connaissance aucun auteur n'a signalé la formation d'acide cyanique et de cyanate de mercure dans cette réaction.

Pour préparer le réactif nécessaire à cette réaction nous opérons de la manière suivante :

Dans un ballon on introduit 50 c. c. de mercure et un litre d'un mélange à parties égales d'eau et d'acide nitrique concentré. Après dissolution complète du mercure on fait passer un courant d'air pour enlever les vapeurs nitreuses et on abandonne la dissolution dans un endroit obscur jusqu'à décoloration.

On mesure alors 100 c. c. de ce réactif et l'on y ajoute 400 c. c. d'une solution saturée de nitrate de potassium; on chauffe au bain-marie et on introduit de l'oxyde jaune de mercure jusqu'à refus. On laisse refroidir et on filtre.

On prend alors un gramme de dulcine, on le dissout dans un litre d'une solution saturée d'azotate de potassium et l'on porte le ballon contenant la solution ainsi préparée sur un bain-marie bouillant. On ajoute alors 50 c. c. du réactif précédent. Il se forme immédiatement un précipité blanc d'abord puis devenant de plus en plus brun.

Quand la réaction est terminée, on laisse refroidir, on recueille le précipité sur un filtre, on le lave à plusieurs reprises et on le dessèche à l'étuve.

Le précipité ainsi obtenu se présente sous forme d'une poudre rouge brun, légère, formée d'un mélange de cyanate de mercure $(COAz)_2Hg^2$ et de la matière colorante décrite par Kinzel.

Pour séparer ces deux corps, le produit obtenu était d'abord traité par l'acétone, mais nous l'avons avantageusement remplacée par le chloroforme acidifié par l'acide acétique. La matière colorante se

dissout. On recommence le traitement à diverses reprises. On décante le liquide coloré, on recueille le précipité sur un filtre, on le lave avec de l'acétone ou du chloroforme puis par un peu d'alcool et on le dessèche à l'étuve.

Ainsi obtenu, le précipité se présente sous forme d'une poudre jaunâtre infusible, brûlant facilement, insoluble dans l'eau, dans l'alcool, soluble dans l'acide chlorhydrique et n'est autre que le cyanate de mercure $(\text{CAzO})^2\text{Hg}^2$.

Le liquide tenant en dissolution la matière colorante est évaporé presque complètement puis précipité par l'eau. Le résidu recueilli est mis en solution dans de l'acide sulfurique concentré. Il s'y dissout avec une belle coloration bleue.

La solution ainsi obtenue est étendue fortement d'eau distillée; le produit se dépose sous forme d'une poudre rouge brun présentant tous les caractères du corps décrit par Kinzel.

Analyse du composé mercuriel.

DOSAGE DU CARBONE

Ces dosages ont été effectués par combustion à la grille, dans un tube garni d'oxyde de cuivre et traversé par un courant d'oxygène : nous avons obtenu les résultats suivants :

Poids de matière	Acide carbonique correspondant	Carbone p. 100	Calculé pour la formule $(\text{CAgO})^2\text{Hg}^2$
—	—	—	—
0,43	0,078	4,93	{ 4,95
0,631	0,109	4,69	

DOSAGE DE L'AZOTE

Ces dosages ont été effectués par la méthode Kjeldahl et à la chaux sodée. Nous inscrivons les résultats obtenus :

Poids de matière	Azote correspondant	Azote p. 100	Calculé pour la formule (CAzO) ₂ Hg ₂
—	—	—	—
0,532	0,0298	5,61	} 5,79
0,641	0,0355	5,54	
0,436	0,0245	5,63	

DOSAGE DU MERCURE

Nous avons dosé le mercure calorimétriquement à l'aide de l'iode par une méthode reposant sur l'équation suivante :



D'où il résulte que 1 gr. d'iode correspond à 1,574 de mercure. Il est donc possible en transformant le mercure combiné au cyanate en protochlorure de mercure de doser volumétriquement l'iode absorbé pour le transformer en iodure et cela à l'aide d'une solution d'hyposulfite de soude.

Un poids donné de la substance est mis en dissolution dans de l'acide chlorhydrique concentré et l'on chauffe légèrement pour activer la dissolution.

Après refroidissement, on ajoute quelques cristaux de sulfate ferreux ; au bout d'une heure, le mercure

se trouve complètement à l'état de calomel. On neutralise avec de la soude pour précipiter le calomel et le fer et on dissout ce dernier avec une solution d'acide sulfurique au dixième. On décante le calomel sur un filtre, on le lave à l'eau distillée jusqu'à ce que les eaux de lavage ne soient plus acides et on le place dans un flacon pouvant se boucher à l'émeri.

On ajoute alors 50 c. c. d'une solution normale d'iode et 10 c.c. d'une solution d'iodure de potassium au dixième et on abandonne jusqu'à dissolution complète.

On place alors le liquide dans un vase à précipité et l'on dose jusqu'à décoloration avec une solution normale d'hyposulfite de soude en se servant comme indicateur de l'eau amidonnée.

De la quantité d'iode disparu on déduit la quantité du mercure à l'aide de la relation :

$$(50-V)0,0127 \times 1,574 = \text{Hg}$$

V désignant le nombre de c.c. de solution d'hyposulfite employé.

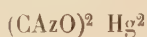
Nous avons trouvé ainsi :

Poids de matière	Mercure correspondant	Mercure p. 100	Calculé pour la formule (CaO) ² Hg ²
0,526	0,4234	80,51	82,64
0,491	0,3337	84,36	

FORMULE

Les résultats obtenus d'un côté par l'analyse et d'autre part par le calcul nous permettent de consi-

dérer que le corps obtenu est bien du cyanate de mercure :



Nous trouvons en effet à l'analyse :

C	$\left\{ \begin{array}{l} 4,93 \\ 4,69 \end{array} \right.$	Az	$\left\{ \begin{array}{l} 5,61 \\ 5,54 \\ 5,63 \end{array} \right.$	Hg	$\left\{ \begin{array}{l} 80,51 \\ 81,04 \end{array} \right.$
---	---	----	---	----	---

les quantités calculées pour la formule nous donnent :

$$\text{C} = 4,95 \quad \text{Az} = 5,79 \quad \text{Hg} = 82,64$$

Étude de la matière colorante.

La matière colorante en solution dans le chloroforme acétique a été identifiée avec celle décrite par Kinzel.

Pour cela la solution bleue obtenue par dissolution dans l'acide sulfurique est étendue progressivement d'une grande quantité d'eau et abandonnée pendant quarante-huit heures. Le produit précipite sous forme d'une poudre brun rougeâtre. On peut l'obtenir cristallisé en dissolvant la poudre ainsi obtenue dans du chloroforme légèrement acidifié par l'acide acétique et en abandonnant la solution dans un endroit frais. Par évaporation du chloroforme la matière colorante cristallise.

De même que la substance décrite par Kinzel, le produit ainsi obtenu est soluble en bleu dans l'acide sulfurique, un peu soluble dans l'eau et l'alcool,

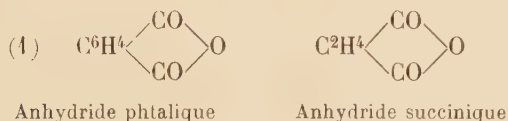
insoluble dans l'éther, soluble dans le chloroforme et l'acide acétique et est sublimable.

Le dosage du carbone nous a donné les résultats suivants :

Poids de matière	Acide carbonique correspondant	Carbone p. 100	Calculé pour la formule $C^{24}H^{22}Az^2O^3$
—	—	—	—
0,30	0,744	67,63	} 68,95
0,25	0,623	67,95	

II. — ACTION DE L'ANHYDRIDE PHTALIQUE SUR LA DULCINE

L'anhydride phtalique a été tout d'abord considéré comme un anhydride ordinaire. On lui avait donné la formule suivante correspondant à celle de l'anhydride succinique :



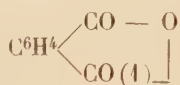
Les recherches si intéressantes de Bayer sur les phtaléines ont montré que l'anhydride phtalique possédait une formule dissymétrique.

En effet cet anhydride en réagissant sur les phénols ne donne pas l'éther diphenyl phtalique, ainsi que cela devrait arriver suivant la formule symétrique (1), mais des composés spéciaux, ou mieux des matières colorantes dont le type est la phtaléine du phénol.

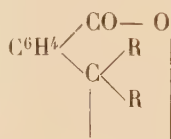
Ces composés obtenus par l'action directe de l'anhydride sur les phénols sont des dérivés du triphé-

nylméthane. En outre ils sont isomères des véritables éthers phtaliques.

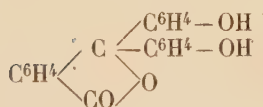
Ces faits ont conduit Bayer a donner à l'anhydride phtalique la formule suivante :



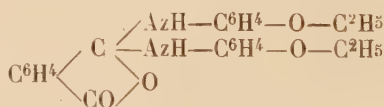
Il se combine avec les phénols et autres radicaux par l'oxygène du groupe carbonyle (1) engendrant ainsi les dérivés du triphénylméthane.



Il en est de même pour notre dérivé phtalique, c'est le même groupement qui agit et la formule qui lui correspond représente la phtaléine dans laquelle le groupement $\text{C}^6\text{H}^4\text{OH}$ serait remplacé par le suivant ($\text{AzH} - \text{C}^6\text{H}^4 - \text{O} - \text{C}^2\text{H}^5$).



Phtaléine du phénol



Phtalyldiphénétolhimide

Si l'on essaie de faire réagir la dulcine sur l'anhydride phtalique on obtient une combinaison ; mais la réaction est complexe, il y a rupture de la molécule et dédoublement de la molécule.

On mélange intimement une molécule d'anhydride phtalique et deux molécules de dulcine ; le mélange placé dans un ballon est porté dans un bain de chlorure de calcium et maintenu pendant deux heures à une température de 120° à 130°.

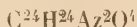
La masse entre partiellement en fusion et se boursoufle, il se produit un dégagement gazeux abondant. En recueillant ces gaz nous avons obtenu du carbonate d'ammoniaque qui s'était déposé dans les tubes d'adduction et de l'acide carbonique. En même temps le mélange jaunit.

Quand la réaction est terminée, on retire le ballon ; on laisse refroidir. Le produit est alors pulvérisé et traité par l'alcool bouillant, jusqu'à dissolution ; par refroidissement il se dépose de belles aiguilles jaune soufre.

Pour le purifier, les cristaux sont traités par l'acide sulfurique concentré, ils se dissolvent en donnant à l'acide une teinte jaune brun. On étend d'eau, la combinaison précipite sous forme d'une poudre jaunâtre. On la recueille sur un filtre, on lave à l'eau distillée chaude.

On reprend par l'alcool bouillant, et on laisse cristalliser.

La substance ainsi purifiée se présente sous forme de belles aiguilles jaune citron, insolubles dans l'eau, fondant à 198°-200° et répondant à la formule :



Ce corps insoluble dans l'eau est soluble dans l'alcool surtout à chaud, soluble dans l'éther, la

benzine, l'acide sulfurique qu'il colore en jaune brun, soluble dans l'acide acétique, surtout à chaud.

Il est précipité par l'eau de ses solutions acides.

Analyse.

DOSAGE DU CARBONE

Ces dosages ont été effectués à la grille dans un tube à combustion et dans un courant d'oxygène. Nous avons obtenu les résultats suivants :

Poids de matière	Acide carbonique correspondant	Carbone p. 100	Calculé pour la formule $C^{24}H^{24}Az^2O^4$
0,259	0,682	71,70	} 71,64
0,202	0,521	70,30	
0,228	0,585	71,28	

DOSAGE DE L'AZOTE

Ces dosages ont été faits par la méthode Kjeldahl et vérifiés par combustion à la grille à analyse. Nous inscrivons les résultats obtenus.

Poids de matière	Azote correspondant	Azote p. 100	Calculé pour la formule $C^{24}H^{24}Az^2O^4$
0,304	0,0195	6,51	} 6,96
0,428	0,0265	6,21	
0,334	0,0209	6,34	

Action de la potasse.

La potasse concentrée réagissant sur ce corps provoque la scission de la molécule. Il se forme, en même temps que du phtalate de potassium, une

substance cristallisée que nous avons identifiée avec l'éthylamidophénol.

On prend 10 grammes de phtalylldiphénétol imide, et on y ajoute 100 c. c. d'une solution de potasse au tiers. On porte à l'ébullition. Il se produit une solution partielle, et il se forme un composé huileux qui cristallise très lentement par refroidissement.

Le résidu est alors étendu d'une grande quantité d'eau. On filtre et le filtratum est neutralisé par de l'acide chlorhydrique; on ajoute un léger excès d'acide: il se produit de suite un précipité blanc abondant.

Le précipité ainsi obtenu est recueilli sur un filtre, on le lave avec de l'eau légèrement acidifiée par l'acide chlorhydrique et on le dissout dans un peu d'alcool bouillant.

Par refroidissement il se dépose de petits cristaux blancs que nous avons identifiés avec l'éthylamido-phénol.



En effet le corps ainsi obtenu fond à 168°, est soluble dans l'eau alcalinisée, très soluble dans l'alcool et donne à l'analyse :

CARBONE			
Poids de matière	Acide carbonique correspondant	Carbone p. 100	Calculé pour la formule $\text{C}^6\text{H}^{11}\text{AzO}$
—	—	—	—
0,494	0,498	69,81	} 70,07
0,244	0,539	69,58	
A. MOULIN.			2-

AZOTE

Poids de matière	Azote correspondant	Azote p. 100	Calculé pour la formule $C^8H^{11}AzO$
—	—	—	—
0,50	0,0504	10,02	} 10,21
0,42	0,0424	10,11	

FORMULE

Les faits signalés précédemment nous permettent d'établir que la substance obtenue répond bien à la formule :



Nous avons en effet trouvé à l'analyse :

$$C \left\{ \begin{array}{l} 71,70 \\ 71,28 \end{array} \right. \quad Az \left\{ \begin{array}{l} 6,51 \\ 6,34 \end{array} \right.$$

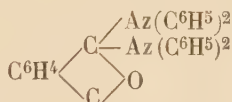
Quantités calculées d'après la formule :

$$C = 71,64 \quad Az = 6,96$$

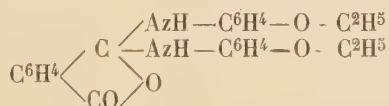
D'autre part, ainsi que nous l'avons indiqué, il se dégage pendant la réaction un mélange de carbonate d'ammoniaque et d'acide carbonique. Nous nous en sommes rendu compte en faisant barboter les gaz provenant de la réaction dans un tube de Liebig contenant de la potasse caustique. Dans les tubes adducteurs il se dépose du carbonate d'ammoniaque que nous avons caractérisé par son odeur et le dégagement d'acide carbonique sous l'action des acides. Dans l'appareil à potasse on trouve beaucoup d'acide carbonique.

Si nous considérons aussi les produits résultant de la saponification par la potasse, saponification qui fournit du phtalate de potassium et de l'éthylamido-phénol, nous pouvons, en tenant compte de ces faits, établir pour ce corps une formule schématique rendant compte de sa constitution

La formule de l'anhydride étant asymétrique ainsi que l'a montré Baeyer, nous sommes amené à donner à ce composé une formule asymétrique analogue à celle donnée par Lellmann au composé décrit sous le nom de phtalyldidiphénylamine et auquel il attribue la constitution suivante :



Nous adopterons donc pour le composé que nous avons décrit le schéma suivant :



Ce schéma permet en effet d'expliquer complètement les différents phénomènes de décomposition que nous avons étudiés pendant la réaction de formation et dans la saponification par la potasse.

Le corps ainsi obtenu ne serait autre que la phtalyldiphénétol imide.

CHAPITRE II

Recherche et dosage de la dulcine dans les substances alimentaires.

Peu de méthodes ont été indiquées jusqu'à ce jour pour la recherche de la dulcine dans les substances alimentaires.

Morpurgo, le premier, a donné un procédé d'extraction applicable au vin et à la bière.

Il ajoute au liquide suspect du carbonate de plomb et évapore à consistance sirupeuse; il épuise par l'alcool et filtre. Le filtratum est évaporé; le résidu repris par l'éther abandonne la dulcine que l'on obtient cristallisée par évaporation du solvant.

Pour caractériser alors la dulcine, on dissout le résidu dans l'acide sulfurique concentré en présence d'un peu de phénol; on chauffe jusqu'à coloration brune, on étend d'eau et on fait couler avec précaution de l'ammoniaque sur le liquide; à la zone de contact, il se produit une coloration bleue ou violette caractéristique.

Morpurgo s'est servi aussi, pour identifier la dulcine, de la réaction de Jorissen, qui est très sensible. Pour cela, le résidu est repris par 4 à 5 centimètres cubes d'eau chaude. On ajoute 2 à 4 gouttes de nitrate mercurique préparé de la manière suivante : On dissout dans l'acide azotique dilué 2 grammes d'oxyde jaune de mercure, on neutralise avec de la soude et on étend à 15 c. c. avec de l'eau distillée. On chauffe au bain-marie bouillant pendant 5 à 10 minutes le tube renfermant la solution de dulcine et de nitrate mercurique. Lorsque la quantité de dulcine est un peu considérable, le liquide est rouge violacé; il est incolore si la quantité est faible. Dans l'un comme dans l'autre cas, on ajoute quelques centigrammes d'oxyde puce de plomb; le liquide prend alors une très belle coloration violette stable.

En 1897, Ruggieri propose, pour caractériser la dulcine, d'évaporer la solution au bain-marie avec une solution de nitrate d'argent ou de chlorure mercurique. On observe ainsi une belle coloration violette stable, devenant plus intense si l'on chauffe à 160°.

Tout récemment, M. Bellier a repris cette question; sa méthode est basée sur le principe suivant.

Si on dissout de la dulcine dans de l'acide sulfurique concentré, qu'on ajoute quelques gouttes d'aldéhyde formique à 30 ou 40 p. 100, il se forme dès qu'on étend d'eau distillée un précipité floconneux, insoluble, se laissant facilement recueillir sur un filtre et laver. Le poids de ce précipité est sensiblement le même que celui de la dulcine employée.

M. Bellier a modifié aussi le mode d'extraction de la dulcine. Il se sert pour cela d'acétate d'éthyle en présence d'un liquide alcalin.

Ses recherches ont surtout porté sur le vin, la bière et les produits de confiserie.

Pour la limonade, les sirops étendus, il suffit de rendre le liquide alcalin à l'aide de quelques gouttes d'ammoniaque et d'agiter vivement avec de l'éther acétique; la séparation des liquides se fait rapidement. Avec le vin, la bière, quelques sirops de fruits, lorsque ces produits ont été alcalinisés, il se forme une émulsion presque irréductible. D'autre part, l'éther acétique enlève, en même temps que la dulcine, des substances qui troublent la réaction. Il faut donc au préalable déféquer les produits. Pour les vins on opère de la manière suivante. A 200 c. c. de vin, on ajoute 2 grammes d'acétate mercurique et après agitation un petit excès d'ammoniaque et on filtre.

Pour la bière, l'acétate mercurique ne donne pas de résultats satisfaisants; il peut être remplacé par le phosphotungstate de soude. A 200 c. c. de bière, on ajoute 2 à 3 grammes de phosphotungstate de soude pulvérisé et 10 à 20 gouttes d'acide sulfurique; après agitation et repos de quelques minutes, on filtre et on alcalinise les filtrations avec de l'ammoniaque.

Si l'on veut seulement rechercher la dulcine, on introduit 200 c. c. du liquide déféqué dans une boule à séparation avec 50 c. c. d'acétate d'éthyl neutre; on agite vivement, puis on laisse la séparation des

liquides s'effectuer. On soutire la couche inférieure aqueuse; on place l'éther dans un vase et on le jette sur un filtre sec. Le liquide qui doit être parfaitement limpide est évaporé complètement à sec et on fait passer un courant d'air dans le récipient pour chasser les dernières traces d'éther.

Pour la majeure partie des vins et pour la bière, ces liquides cèdent toujours une quantité plus ou moins grande de matières grasses et résineuses qui gênent la cristallisation et la réaction finale. On parvient à les éliminer, bien qu'incomplètement, par des dissolutions dans l'eau distillée chaude et des évaporations successives.

Lorsqu'on considère le produit comme suffisamment pur, on le dissout une dernière fois dans l'eau distillée et on l'évapore à siccité dans une petite capsule de porcelaine. On ajoute alors 1 à 2 c. c. d'acide sulfurique concentré, quelques gouttes d'aldéhyde formique, et après un quart d'heure de contact on étend à 5 c. c. avec de l'eau distillée.

Si la dulcine était présente on obtient un louche très apparent ou un précipité plus ou moins abondant.

Le dosage de la dulcine est effectué de la même manière sauf quelques précautions en plus.

Les liquides alcooliques dissolvent une quantité d'éther acétique non négligeable, il faut avant défécation éliminer l'alcool. Il est utile aussi de faire deux lavages à l'éther acétique. Le résidu de l'épuisement, purifié par des cristallisations successives, est dissous dans 1 à 5 c. c. d'acide sulfurique concentré; on ajoute

quelques gouttes d'aldéhyde formique puis après un quart d'heure de contact on étend le volume à 10 ou 50 c. c. avec de l'eau distillée.

Après vingt-quatre heures de repos, on recueille le précipité sur un filtre taré, on lave à l'eau distillée, on absorbe l'eau avec du papier buvard, on dessèche à l'étuve et on pèse.

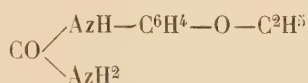
Principe de la méthode.

On peut voir par l'exposé précédent que cette méthode, qui donne d'ailleurs d'excellents résultats, est longue et délicate.

En outre, en présence de très petites quantités de dulcine les lavages successifs peuvent l'entraîner et ne laisser que des traces difficiles à caractériser.

Le procédé que nous avons imaginé et qui comme on le verra présente plusieurs avantages sur les méthodes antérieurement décrites repose sur l'ensemble des faits suivants.

Dans la molécule de la dulcine :



se trouve le groupement phénétol $\text{C}^6\text{H}^4 - \text{O} - \text{C}^2\text{H}^5$ ou éther éthylique du phénol. Si l'on traite ce composé par l'acide nitrique naissant avec les précautions indiquées plus loin, ce même groupement passe à l'état d'acide picrique qui apparaît avec sa teinte jaune caractéristique.

On conçoit donc que de l'intensité de cette teinte, on puisse déduire la quantité de dulcine contenue dans le liquide, si l'on opère par comparaison avec une échelle obtenue dans les mêmes conditions mais avec un poids connu de dulcine.

Lorsqu'on traite de la dulcine en solution dans l'acide acétique par quelques cristaux d'azotate de potassium, et qu'on porte le tout sur un bain-marie, on ne tarde pas à voir se produire autour des cristaux une teinte jaune due à la formation d'acide picrique.

Cependant à chaud la réaction est complexe et fugace, et le liquide ne tarde pas à passer par une série de colorations qui enlèvent à la réaction toute certitude.

Nous avons supprimé ces inconvénients et rendu la réaction régulière par l'emploi d'un réactif spécial qui est un mélange d'acide acétique et d'acide sulfurique.

Acide sulfurique	40 c.c.
Acide acétique.	100 c.c.

Avec ce solvant les cristaux d'azotate de potassium réagissent à froid et dans ces conditions quelle que soit la durée de contact on n'observe pas de production de teinte pouvant gêner la comparaison.

Recherche de la dulcine dans les substances alimentaires.

D'après ce qui précède, deux auteurs seulement se sont occupés de la recherche de la dulcine dans les substances alimentaires,

Le procédé Morpurgo qui a été publié le premier est essentiellement qualitatif, tandis que M. Bellier s'est proposé la recherche qualitative et le dosage de la dulcine.

Cependant au cours de ce travail ayant eu l'occasion d'appliquer les deux procédés et de les étudier, j'ai observé qu'ils n'étaient ni l'un ni l'autre intégralement applicables à tous les cas.

Cette observation m'a amené à une méthode d'extraction mixte de la dulcine et à des modifications qui dépendent de l'état physique sous lequel les substances à examiner se présentent.

Pour les liquides (vins, bières, sirops étendus), on alcalinise le liquide avec de l'eau de baryte, on laisse reposer quelque temps puis on filtre.

Le liquide ainsi déféqué est introduit dans une boule à séparation et agité avec de l'acétate d'éthyl neutre. On soutire le liquide aqueux dès que la séparation est complète, on recueille l'éther acétique et on le jette sur un filtre bien sec. Le filtratum est recueilli dans un vase conique et évaporé à siccité au bain-marie. Il reste un résidu composé de dulcine quelquefois colorée en jaune par des matières résineuses entraînées par l'éther.

Si l'on a à examiner des substances riches en extrait sec ou des substances solides, il est préférable d'employer la méthode d'extraction du Morpurgo. On opère alors de la manière suivante.

La substance à examiner, pulvérisée au préalable si cela est nécessaire, est ramenée à l'état de pâte assez fluide, avec de l'eau distillée. On y mélange

alors un peu de carbonate de plomb ; le mélange placé dans une capsule de porcelaine est porté sur un bain-marie bouillant et évaporé presque à siccité. Le résidu ainsi obtenu est repris par l'alcool bouillant et épuisé par ce liquide. L'alcool est évaporé et le résidu est traité par l'éther ; on filtre l'éther, on le reçoit dans un vase conique et on évapore au bain-marie à siccité. Ce traitement donne la dulcine presque pure.

Pour caractériser la dulcine obtenue par l'une de ces deux méthodes, on ajoute dans le vase contenant la dulcine 10 à 15 c. c. d'un solvant composé de :

Acide acétique	400 c. c.
Acide sulfurique	10 c. c.

On agite jusqu'à dissolution complète et on ajoute quelques cristaux d'azotate de potassium. On ne tarde pas à voir apparaître une coloration jaune due à la formation d'acide picrique.

Au bout de quelques heures, on ajoute 100 c. c. d'eau distillée ; en cas de présence de la dulcine, la coloration jaune subsiste.

Souvent la solution dans le mélange acide est colorée en jaune plus ou moins brun par les impuretés mélangées à la dulcine, mais cette coloration ne gêne pas la réaction ; bien souvent elle disparaît sous l'action de l'azotate de potassium, et toujours l'addition d'eau précipite les substances résineuses qui la provoquent. Seule la coloration due à l'acide picrique subsiste.

INFLUENCE DE LA VANILLINE

Parmi les nombreux échantillons de substances que nous avons examinés, quelques-uns nous ont donné des résultats trop élevés par rapport à la quantité de dulcine incorporée.

A la suite de nombreux essais, nous avons acquis la certitude que ce fait se présentait uniquement pour les substances (liqueurs ou produits de confiserie) aromatisées à la vanilline. Nous avons pu nous rendre compte en effet que la vanilline dans les conditions où nous nous plaçons donne aussi la coloration jaune de l'acide picrique.

Nous avons pu néanmoins appliquer à ces produits notre méthode de recherche de la dulcine.

Pour cela l'éther acétique contenant la dulcine en solution est placé de nouveau dans la boule à séparation. On y ajoute une solution formée de parties égales d'eau distillée et d'une solution saturée de bisulfite de soude et on agite fortement. La séparation est très rapide ; on décante le liquide aqueux qui entraîne la vanilline ; on recommence ce lavage à deux reprises.

On caractérise ensuite la dulcine qui est restée dans l'éther comme nous l'avons indiqué.

Dosage de la dulcine dans les substances alimentaires.

La dulcine ayant été décelée dans une substance, il est facile de la doser par comparaison avec une

échelle colorée, préparée avec un poids connu de dulcine. Il est aussi nécessaire de prendre pour l'extraction de la dulcine quelques précautions que nous allons indiquer.

PRÉPARATION DE L'ÉCHELLE COLORIMÉTRIQUE

Pour préparer l'échelle qui nous servira de point de comparaison pour effectuer le dosage, on opère de la manière suivante.

On pèse exactement 50 milligrammes de dulcine et on les introduit dans un vase conique de 60 c. c. ; on y ajoute 20 c. c. du réactif acéto-sulfurique :

Acide acétique.	100 c. c.
Acide sulfurique.	40 c. c.

et on laisse la dissolution s'effectuer à froid. Quand la solution est complète, on projette dans le liquide quelques cristaux d'azotate de potassium. La teinte jaune de l'acide picrique apparaît presque de suite autour des cristaux. On abandonne alors le liquide à lui-même en ayant soin d'agiter de temps en temps.

On verse alors la liqueur dans une éprouvette graduée de 100 c.c. On lave à plusieurs reprises le vase à l'eau distillée, on verse les eaux de lavage dans l'éprouvette et on complète le volume à 100 c.c. avec de l'eau distillée.

Dans ces conditions, 10 c.c. de liqueur correspondent exactement à 0 gr. 005 de dulcine. On prélève donc successivement 5 c.c. : 10 c.c. : 15 c.c. : 20 c.c. : 30 c.c. de liqueur et on amène chacun de ces volumes

à 100 c.c. avec de l'eau distillée. On place les liquides ainsi obtenus dans des éprouvettes de même diamètre pouvant se boucher à l'émeri et l'on a ainsi une série de tubes colorés dont la teinte augmentant progressivement correspond aux colorations obtenues par 0,0025 ; 0,005 ; 0,010 ; 0,015 de dulcine.

Ce sont ces tubes ainsi préparés et se conservant facilement sans s'altérer si l'on opère avec soin qui nous serviront comme point de comparaison pour le dosage.

Les quantités que nous venons d'indiquer sont celles qui nous paraissent les plus convenables pour un dosage ordinaire. Elles nous ont toujours donné des résultats satisfaisants. Si toutefois l'on désirait une plus grande approximation, il serait facile de construire sur le même principe une échelle colorée de milligramme en milligramme. Dans ces conditions la différence de teinte entre deux tubes consécutifs est encore nettement appréciable.

Dosage de la dulcine.

Pour procéder au dosage de la dulcine on se sert pour l'extraction de ce corps d'une des deux méthodes que nous avons indiquées pour sa recherche en observant toutefois quelques précautions supplémentaires que nous allons signaler.

La coloration obtenue pendant la recherche de la dulcine ayant donné une idée approximative de la teneur en dulcine de la substance à examiner, on prélève une quantité telle de substance que l'on

obtienne un résidu contenant une quantité de dulcine inférieure à 20 milligrammes. Soit pour les liquides un volume variant entre 50 et 200 c. c.

On additionne ce liquide d'une quantité suffisante d'eau de baryte pour le rendre franchement alcalin; on abandonne au repos pendant une heure et on le jette sur un filtre pour séparer le précipité formé.

Si le liquide que l'on examine contient de l'alcool, on le porte alors sur un bain-marie pour évaporer l'alcool qui sans cette précaution retiendrait une certaine quantité d'éther. Dès que l'alcool a complètement disparu, on laisse refroidir et on filtre s'il y a lieu.

Le liquide ainsi préparé est introduit dans une boule à séparation et agité fortement avec 50 c. c. d'éther acétique neutre. Généralement la séparation complète est pénible; on la facilite en imprimant à la boule de petits mouvements de rotation. Quand la séparation est presque complète, on sépare le majeure partie du liquide aqueux et on agite à plusieurs reprises assez vivement; cette opération suffit généralement pour amener une séparation complète. Si toutefois la séparation était encore insuffisante, on laisserait reposer; on sépare alors complètement le liquide aqueux bien séparé et on ajoute quelques gouttes d'alcool; on agite doucement; la séparation s'effectue. On recueille dans un vase l'éther surnageant.

Le liquide aqueux est remplacé dans la boule à séparation et épuisé une seconde fois par 50 c. c. d'acé-

tate d'éthyl. Dans ce second traitement la séparation des liquides est toujours très rapide ; après séparation on recueille l'éther, on le mélange avec le précédent et le tout est jeté sur un filtre bien sec.

Le filtratum recueilli est placé dans un vase conique et évaporé lentement à siccité sur un bain-marie.

Sur le résidu, on ajoute 15 c. c. du solvant acéto-sulfurique, déjà indiqué ; après dissolution complète on ajoute quelques cristaux d'azotate de potassium et on abandonne au repos pendant douze heures, en ayant soin toutefois d'agiter légèrement de temps en temps.

Le produit de la réaction est alors versé dans une éprouvette de 100 c. c. On lave à plusieurs reprises le vase à l'eau distillée ; les eaux de lavage sont jointes à la liqueur primitive et on complète le volume à 100 c. c. avec de l'eau distillée.

Le liquide ainsi obtenu est versé dans une éprouvette semblable à celle constituant l'échelle et le contenu est comparé colorimétriquement avec cette dernière. De la place qu'il occupe dans l'échelle on déduit la teneur en dulcine.

Si la coloration obtenue dépasse le degré de l'échelle, on étend le liquide de son volume d'eau distillée et alors le résultat est multiplié par deux.

Nous avons appliqué notre méthode à divers échantillons liquides, solides et pâteux et nous avons obtenu les résultats suivants.

Avec des liquides (vins, bières, limonade) conte-

nant par litre 25 centigrammes de dulcine nous avons employé 50 c. c. de liquide.

Quantité de liquide examinée	Espèce de substance	Quantité trouvée	Quantité pour cent
—	—	—	—
50 cc.	Vin	0,013	0,026
50	Bière	0,012	0,024
50	Limonade	0,012	0,024

D'autres essais portant sur des produits de confiserie contenant par kilogramme un gramme de dulcine nous ont donné les résultats ci-dessous :

Poids des substances examinées	Espèce de substance	Quantité trouvée	Quantité pour cent
—	—	—	—
40 gr.	Confitures	0,011	0,11
40	Pastilles	0,010	0,10
40	Pâte de lichen	0,008	0,08
40	Suc de réglisse	0,013	0,13

QUATRIÈME PARTIE

CONCLUSIONS

1° L'action du nitrate mercurioso-mercurique neutre sur la dulcine nous a donné deux produits, dont l'un est représenté par une matière colorante que nous avons identifiée avec celle de Kinzel et qui est le résultat de l'oxydation du groupement amido-phénétol contenu dans la dulcine.

Le second composé n'est autre que le cyanate de mercure dont la formation n'a pas été signalée, du moins à notre connaissance.

2° L'action de l'anhydride phtalique nous a donné une imide complexe, la phtalyldiphénétol imide, et l'étude de la réaction nous a montré que le dégagement gazeux qui accompagne la formation de l'imide est un mélange d'acide carbonique et de carbonate d'ammoniaque.

3° L'action de la potasse sur la phtalyldiphénétol imide dédouble l'imide en ses générateurs, que nous

avons caractérisés. Savoir : d'une part, du phtalate de potassium; d'autre part, l'éthylamidophénol identique à celui qui a été antérieurement, et dans un travail tout différent, décrit par Griess.

4° Nous nous sommes occupé de la recherche et du dosage de la dulcine dans les matières alimentaires. Nous avons eu l'occasion de modifier les procédés employés jusqu'ici et de trouver un procédé simple de dosage de la dulcine en transformant cette substance en un dérivé picrique jaune qui est dosé colorimétriquement par comparaison avec une échelle graduée.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
CROLAS.

Vu :

POUR LE DOYEN,
L'Assesseur,
LACASSAGNE.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE.
Président du Conseil de l'Université,
G. COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN (Alfred). — Commercial organic analysis.
- BELLIER. — *Annales de chimie analytique*.
- BERLINERBLAU. — *Journ. prakt. Chém.*, t. XXX, p. 97.
- CAUSSE (H.). — Acétols aromatiques, thèse inaugurale, Paris.
- CAHOURS. — *Annales de chimie et de physique*, t. XXVII, p. 464.
- GRIESS. — *Deutsch chem. Gesellsch.*, 1880.
- LELLMANN. — *Deutsch chem. Gesellsch.*, 1882, p. 830.
- KINZEL. — *Archives de pharmacie*, t. XXXIX, p. 329-355.
- RUGGIERI. — *An. de lab. delle Gabelle Roma*, t. III, p. 348.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.	3
-----------------------	---

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DE QUELQUES RÉACTIONS ET DÉRIVÉS DE LA DULCINE

I. — Action du réactif mercurioso-mercurique	7
Cyanate de mercure	8
<i>Analyse</i> : Carbone	9
Azote	10
Mercure	10
FORMULE	11
Matières colorantes	12
II. — Action de l'anhydride phtalique	13
<i>Analyse</i> : Carbone	16
Azote	16
Action de la potasse	16
FORMULE	17

CHAPITRE II

RECHERCHE ET DOSAGE DE LA DULCINE DANS LES SUBSTANCES ALIMENTAIRES

Introduction bibliographique	21
Principe de la méthode	23
Recherche de la dulcine	26
Influence de la vanilline	29
Dosage de la dulcine	29
Préparation de l'échelle colorimétrique	30

QUATRIÈME PARTIE

CONCLUSIONS	33
BIBLIOGRAPHIE	37

LYON

IMPRIMERIE A. STORCK & C^o

8, Rue de la Méditerranée.
